

PENGUNAAN EKSTRAK DAUN PACI-PACI *Leucas* sp. UNTUK PENCEGAHAN PENYAKIT MIKOTIK PADA IKAN GURAME *Osphronemus gouramy* Lac.

The Used of Paci-Paci Leaves Extract *Leucas* sp. to Prevent Mycotic Disease

S. Nuryati, M. A. Suparman dan Y. Hadiroseyani

Departemen Teknologi dan Manajemen Akuakultur, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan,
Institut Pertanian Bogor, Kampus Darmaga, Bogor 16680

ABSTRACT

Injury of fish caused by handling of fry transportation and harvesting could impact mycosis. Effort on controlling by using chemotherapeutic could impact on pollution of environment and even carcinogenic effect. One of alternative substances can be used in both preventing and controlling safely is paci-paci, *Leucas* sp. This method based on phytopharmacy. The aim of this research is to test the prevention of paci-paci leaves extract to mycotic disease. This research used five treatments: positive control; the doses of paci-paci extract were 0 gr/l (negative control); 0.5 gr/l; 1 gr/l and 1.5 gr/l by using the gurami, *Osphronemus gouramy* Lac. That was measuring 7-9 cm. The method that was used is the short-term submersion (short baths) for 24 hours. Paci-paci extract can reduced the fungal infection and hindered the growth of *Saprolegnia* sp. colonies. Descriptively, the paci-paci extract (the treatment of the extract 0.5 gr/l; 1 gr/l; 1.5 gr/l) could prevent the *Saprolegnia* sp. infection with the successive prevalence 33.3 %; 22.2 %; 0 %.

Keyword: *Osphronemus gouramy*, paci-paci, *Leucas* sp. and mycosis

ABSTRAK

Luka-luka pada tubuh ikan baik yang disebabkan penanganan pada saat pengangkutan maupun panen benih berpeluang menimbulkan penyakit mikotik yang disebabkan oleh cendawan. Upaya pengendalian menggunakan obat-obatan kimia berpotensi menimbulkan pencemaran lingkungan dan bahkan ada yang bersifat karsinogenik. Salah satu bahan alternatif yang dapat digunakan dengan aman dalam upaya pencegahan dan pengendalian tersebut adalah paci-paci, *Leucas* sp. yang merupakan metode berbasis fitofarmaka. Penelitian ini bertujuan untuk menguji pengaruh ekstrak daun paci-paci pada pencegahan penyakit mikotik. Penelitian ini menggunakan lima perlakuan yaitu kontrol positif; dosis ekstrak 0 gr/l (kontrol negatif); 0,5 gr/l; 1 gr/l dan 1,5 gr/l dengan menggunakan ikan gurame, *Osphronemus gouramy* Lac. yang berukuran 7-9 cm. Metode yang digunakan yaitu perendaman jangka pendek (*short baths*) selama 24 jam. Dengan metode tersebut ternyata ekstrak paci-paci dapat mengurangi timbulnya infeksi dan menghambat pertumbuhan koloni cendawan *Saprolegnia* sp. Ini ditunjukkan dengan semakin menurunnya nilai prevalensi dan diameter koloni jika dibandingkan dengan kontrol positif. Secara deskriptif, ekstrak paci-paci (perlakuan ekstrak 0,5 gr/l; 1 gr/l; 1,5 g/l) dapat mencegah serangan *Saprolegnia* sp. dengan prevalensi berturut-turut 33,3 %; 22,2 %; 0 %.

Kata kunci: Gurame, *Osphronemus gouramy*, Paci-paci, *Leucas* sp. dan mikotik

PENDAHULUAN

Ikan gurame, *Osphronemus gouramy* Lac. dikenal sebagai ikan yang bernilai ekonomis tinggi. Permintaan pasar yang tinggi menjanjikan keuntungan yang cukup menggiurkan sehingga para petani masih bersemangat membudidayakannya. Kebutuhan pasar akan ikan hidup masih

menimbulkan permasalahan bagi petani. Penanganan pada saat pengangkutan benih maupun pada saat panen sering menyebabkan luka-luka pada tubuh ikan. Hal ini berpeluang terhadap timbulnya penyakit mikotik yang disebabkan oleh cendawan. Ikan yang terinfeksi cendawan berdampak pada turunnya nilai jual bahkan dapat menyebabkan keengganan pelanggan untuk

membeli pada tempat yang sama karena dianggap memiliki kualitas yang buruk.

Upaya pencegahan dan pengobatan yang lazim dilakukan pada ikan-ikan yang terkena penyakit mikotik adalah menggunakan obat-obatan kimia seperti malachite green, formalin, hidrogen peroksida, dan sebagainya (Mayer, 2000). Akan tetapi penggunaan bahan kimia cenderung tidak ramah lingkungan dan ada yang bersifat karsinogenik. Seiring dengan adanya kecenderungan yang memperhatikan masalah keamanan pangan dan lingkungan maka diharapkan adanya metode pencegahan penyakit mikotik yang bersifat aman bagi pembudidaya, ramah lingkungan dan murah.

Penggunaan fitofarmaka yang mulai menjadi perhatian dunia sekarang ini merupakan salah satu alternatif pengobatan yang ramah lingkungan. Negara Thailand dan Philipina telah memanfaatkannya sebagai bakterisida, fungisida, algasida, virusida, herbisida, dan pestisida. Penelitian mengenai fitofarmaka semakin gencar dilakukan di Thailand, sejak negara ini mencanangkan tahun 2000 sebagai tahun fitofarmaka (Simanungkalit, 2000 dalam Angka *et al.*, 2002).

Di Indonesia, fitofarmaka sudah sangat dikenal terutama untuk pengobatan manusia, namun belum dimanfaatkan dalam budidaya ikan. Beberapa jenis fitofarmaka dapat dicobakan untuk pengobatan penyakit ikan, karena merupakan bahan alami yang mudah hancur sehingga aman dan ramah lingkungan. Diantaranya adalah penggunaan tanaman paci-paci *Leucas* sp. dalam pencegahan penyakit mikotik. Dengan dilakukannya penelitian ini diharapkan dapat diperoleh informasi ilmiah mengenai paci-paci terkait dengan efek pencegahan terhadap serangan cendawan pada ikan gurame. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui gejala klinis dan karakteristik serangan cendawan *Saprolegnia* sp. dan kemudian mengetahui pengaruh ekstrak daun paci-paci dalam mencegah serangan cendawan tersebut pada berbagai dosis yang diberikan.

BAHAN & METODE

Sterilisasi Alat dan Media

Sterilisasi akuarium menggunakan alkohol 70% yang disapukan pada dinding bagian dalam. Sedangkan untuk mencegah adanya kontaminasi pada alat dan media, cawan petri dan media yang digunakan dimasukkan dalam autoklaf bertekanan 1 atm pada suhu 121 °C selama 15 menit. Untuk menghindari adanya kontaminan pada media kultur maka meja dan alat yang digunakan dibersihkan dengan alkohol 70%.

Pembuatan Media Kultur

Media kultur yang digunakan adalah media padat GYA (*glucose yeast agar*) yang dibuat dengan komposisi masing masing 5 gr : 2,5 gr : 15 gr dalam 1 liter akuades. Untuk isolasi cendawan dari ikan yang sakit, ditambahkan *Penicilin-Streptomycin* pada media dengan dosis 10.000 unit/ml sebanyak 10 ml.

Isolasi Cendawan dan Pemurnian Isolat

Isolasi cendawan diperoleh dari ikan gurame yang terinfeksi cendawan. Infeksi cendawan terlihat berupa benang-benang putih pada permukaan kulit yang terinfeksi. Isolasi dilakukan dengan memotong epidermis secara aseptik dan ditanam pada media GYA yang ditambahkan antibiotik. Untuk mengetahui kemungkinan infeksi cendawan pada otot daging, maka daging di bawah epidermis yang terinfeksi dipotong dan ditanam pada media. Media yang ditanam dengan jaringan yang terinfeksi cendawan akan ditumbuhi koloni cendawan setelah 24 jam. Untuk pemurnian, koloni cendawan ditanam pada media GYA tanpa antibiotik.

Penanaman pada Media GYB

Koloni cendawan yang tumbuh pada media GYA ditanam pada media cair GYB (*glucose yeast broth*) dengan memotong miselium menjadi “mat” (potongan kecil) berukuran 3×3×3 mm³ secara aseptik. Penanaman ini bertujuan agar cendawan dapat tumbuh ke segala arah tanpa harus menempel pada substrat sehingga diperoleh

koloni yang bersih dari substrat. Hasil dari kultur ini digunakan untuk reinfeksi dan identifikasi.

Identifikasi Cendawan

Identifikasi cendawan dilakukan dengan mengambil koloni cendawan dari media GYB kemudian dicuci 3 kali menggunakan akuades dan diinkubasi dalam media air kolam steril. Pengamatan proses sporulasi dilakukan dengan bantuan mikroskop tiap 2 jam sekali sampai terlihat proses sporulasi dan perkembangbiakan generatifnya. Proses identifikasi dilakukan dengan membandingkan hasil yang diperoleh dengan pustaka yang mengacu pada Hughes (1994).

Penularan Spora *Saprolegnia*

Infeksi buatan dilakukan dengan cara perendaman spora *Saprolegnia* sp. yang berasal dari hasil kultur media GYB. Sebelum dilakukan perendaman terlebih dahulu dilakukan penghitungan spora dengan menggunakan Haemocytometer. Kepadatan spora minimal yang akan direndam adalah sebanyak 2×10^5 spora/l (Hatai and Hoshiai, 1994).

Pembuatan Ekstrak Daun Paci-paci *Leucas* sp.

Untuk pembuatan sediaan kering, tanaman yang masih segar dijemur (kering udara) selama satu minggu. Daun yang kering akan hancur menjadi serpihan bila diremas. Tanaman yang telah kering diblender sampai halus dan disaring sehingga diperoleh bahan dalam bentuk serbuk yang akan digunakan untuk pembuatan ekstrak.

Metode ekstraksi yang digunakan adalah dengan cara *macerasi* dengan menggunakan pelarut air. Sebanyak 60 gram serbuk bahan ekstrak dengan air sebanyak 1 liter pada temperatur 50°C selama 30 menit (Anonymous, 1986 dalam Giyarti, 2000). Larutan tersebut diaduk dengan *magnetic stirrer* selama 2 jam dan disaring.

Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan 5 perlakuan yang masing-masing perlakuan

terdiri dari 9 ekor ikan gurame ukuran 7 – 9 cm. Dengan menggunakan akuarium ukuran $20 \times 20 \times 20 \text{ cm}^3$ sebanyak 15 buah dilengkapi dengan instalasi aerasi dan termometer.. Perlakuan yang diberikan adalah kontrol positif, kontrol negatif, dosis ekstrak 0,5 g/l, dosis ekstrak 1,0 g/l dan dosis ekstrak 1,5 g/l. Kontrol positif adalah spesimen uji yang diinfeksi cendawan tanpa pemberian ekstrak paci-paci. Sedangkan kontrol negatif adalah spesimen uji yang tidak diberi perlakuan apapun. Perlakuan lainnya adalah spesimen uji yang telah diinfeksi cendawan dan diberi ekstrak paci-paci 0,5 g/l, 1,0 g/l, dan 1,5 g/l. Metode pencegahan yang dilakukan adalah metode perendaman jangka pendek (*short baths*) selama 24 jam. Setelah 24 jam, dilakukan pergantian air total.

Parameter Pengamatan

Parameter yang diamati meliputi pengamatan makroskopis, pengamatan mikroskopis, dan kualitas perairan sebagai data pendukung.

A. Pengamatan Makroskopis, meliputi :

- Gejala klinis ikan yang terinfeksi *Saprolegnia* sp.

- $$\text{Prevalensi} = \frac{\text{Jumlah ikan yang terinfeksi}}{\text{Jumlah ikan yang diperiksa}} \times 100\%$$

- $$\text{Tingkat kelangsungan hidup} = \frac{\text{Jml.ikan pada akhir pemeliharaan}}{\text{Jml.ikan pada awal pemeliharaan}} \times 100\%$$

B. Pengamatan mikroskopis

- Morfologi dan karakteristik cendawan *Saprolegnia* sp.
- Pengamatan jaringan dermis ikan gurame yang terinfeksi cendawan (preparat histologi).

C. Pengamatan kualitas air

- Temperatur harian
- Nilai pH
- kandungan NH_3

HASIL & PEMBAHASAN

Pengamatan Makroskopis

Ikan gurame, *Osphronemus gouramy* Lac. yang mendapat perlakuan infeksi cendawan mulai menunjukkan gejala terinfeksi setelah 18 jam. Tanda-tanda klinis ikan yang terinfeksi yaitu terdapat koloni cendawan berupa benang-benang putih di permukaan kulit yang terinfeksi. Pada keliling infeksi terjadi hemoragi berupa garis merah yang melingkari kumpulan benang-benang putih (Gambar 1). Infeksi cendawan hanya terjadi di sekitar permukaan kulit yang dilukai pada awal perlakuan.

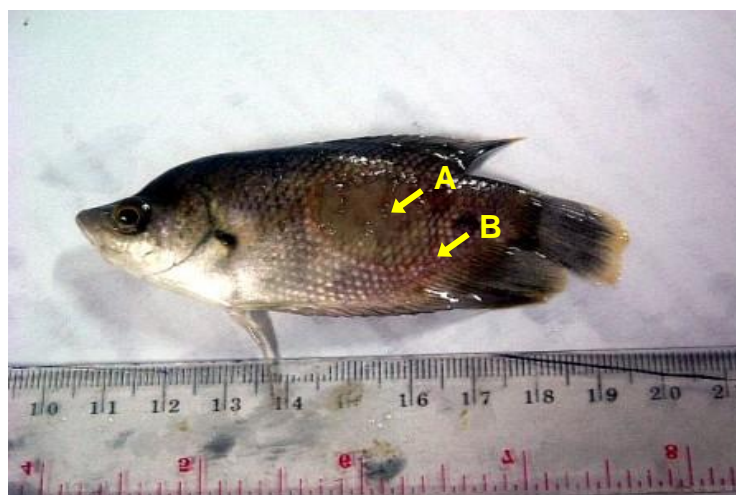
Pada hari ketiga, semua koloni cendawan lepas dari permukaan kulit. Lepasnya cendawan menyebabkan epidermis di bawahnya turut terlepas sehingga menyebabkan hemoragi sekitar luka. Luka kemerahan tersebut mulai menunjukkan *recovery* pada hari keempat. Bekas luka masih dapat dilihat sampai akhir perlakuan berupa bekas menghitam.

Dari hasil pemeriksaan ikan yang terinfeksi, dapat diketahui nilai prevalensi masing-masing perlakuan. Nilai prevalensi sebesar 0 % pada perlakuan kontrol negatif menunjukkan bahwa tidak terjadi kontaminasi spora cendawan pada media kontrol tersebut. Tingkat prevalensi cendawan *Saprolegnia* sp. sangat rendah yang terbukti dari dengan nilai prevalensi pada perlakuan kontrol positif yang hanya mencapai 33,3 %. Pengamatan tingkat

prevalensi dan rata-rata diameter koloni cendawan *Saprolegnia* sp. yang diperoleh pada tiap perlakuan disajikan seperti pada Gambar 2.

Hasil pengamatan pada masing-masing perlakuan menunjukkan adanya pengaruh pemberian ekstrak terhadap nilai prevalensi cendawan *Saprolegnia* sp. terhadap ikan gurame, *Osphronemus gouramy* Lac. Nilai prevalensi cenderung mengalami penurunan dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak daun paci-paci yang diberikan. Nilai prevalensi yang dihasilkan masing-masing perlakuan tercatat mulai dari 33,3 % (K+), 33,3 % (D0,5), 22,2 % (D1), hingga 0 % (D1,5). Pada perlakuan dosis 0,5 g/l, tingkat prevalensi memiliki nilai yang sama dengan kontrol positif. Meskipun begitu, pengaruh perlakuan menunjukkan perbedaan yang nyata jika dilihat dari diameter koloni yang tumbuh pada permukaan epidermis. Perlakuan dosis 0,5 g/l menghasilkan nilai diameter koloni yang jauh lebih kecil dibanding kontrol positif. Hal serupa juga dapat diamati pada perlakuan lainnya yang memiliki nilai diameter koloni yang jauh lebih kecil dibanding kontrol positif.

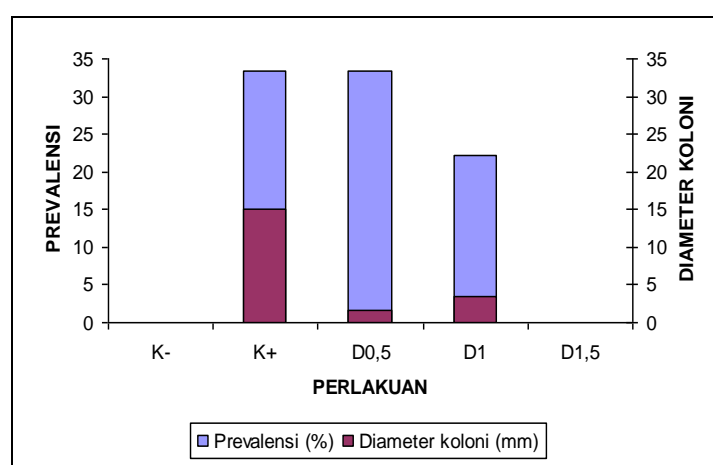
Selama pemeliharaan, tidak ada ikan yang mati sampai dengan hari terakhir sehingga tingkat kelangsungan hidup yang diperoleh adalah 100%. Hal ini menjelaskan bahwa tingkat virulensi dari *Saprolegnia* sp. yang diujikan sangat rendah bahkan hampir tidak ada.



Gambar 1. Ikan gurame, *Osphronemus gouramy* Lac. yang diinfeksi cendawan *Saprolegnia* sp. (A) Koloni cendawan, (B) Hemoragi.

Tabel 1. Pengamatan diameter infeksi cendawan *Saprolegnia* sp. pada ikan gurame, *Osphronemus gouramy* Lac.

Perlakuan	Σ Ikan yang diperiksa (ekor)	Terinfeksi (ekor)	Rata-rata diameter koloni cendawan (mm) pada tubuh ikan
Kontrol negatif	9	0	0
Kontrol positif	9	3	15
Dosis 0,5 g/l	9	3	1,67
Dosis 1 g/l	9	2	3,5
Dosis 1,5 g/l	9	0	0



Gambar 2. Tingkat prevalensi dan diameter koloni cendawan *Saprolegnia* sp. pada ikan gurame, *Osphronemus gouramy* Lac. masing-masing perlakuan. K = Kontrol; D = Dosis perlakuan (g/l).

Pengamatan Mikroskopis

A. Morfologi dan Karakteristik Cendawan *Saprolegnia* sp.

Pengamatan morfologi dan reproduksi dilakukan pada saat isolasi dan setelah reinfeksi pada ikan uji yang bertujuan untuk identifikasi cendawan yang diujikan. Dari hasil yang diperoleh, jenis cendawan yang diujikan berasal dari genus *Saprolegnia* sp. (Tabel 2). Genus *Saprolegnia* umumnya menyerang ikan-ikan air tawar. Ciri cendawan *Saprolegnia* sp. yaitu koloni berwarna putih buram, zoospora primer tidak *encyst* sehingga dengan pengamatan visual tidak terdapat bintik hitam pada ujung hifa. Pengamatan mikroskopis menunjukkan bahwa *Saprolegnia* sp. memiliki hifa yang

lebih besar dibanding *Aphanomyces* yaitu berkisar 26 – 40 μm . Ujung hifa membulat dengan sporulasi tanpa membentuk kista di mulut sporangium, langsung menyebar.

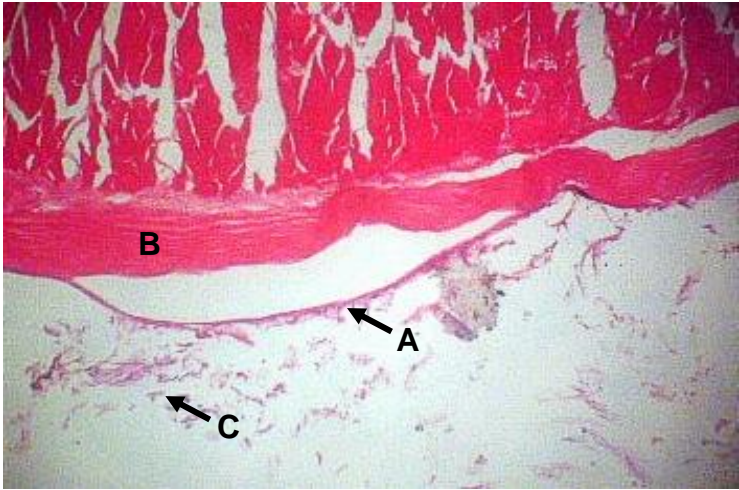
Histopatologi Jaringan Kulit

Histopatologi dilakukan pada jaringan kulit ikan yang terinfeksi dan yang telah mengalami *recovery*. Pada pemeriksaan preparat histologi, serangan spora mampu mencapai lapisan *stratum compactum*, namun kebanyakan hanya pada lapisan epidermis. Lapisan epidermis yang ditumbuhi hifa mempunyai daya rekat yang lemah sehingga terlepas dari lapisan *stratum compactum* pada pengamatan histopatologi (Gambar 2). Hal ini sesuai dengan Mayer (2000) yang menjelaskan bahwa infeksi *Saprolegnia*

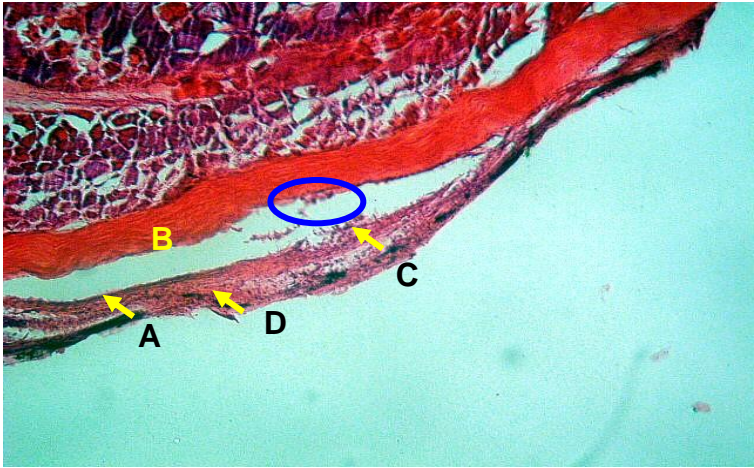
dapat menyebabkan kerusakan jaringan dan hilangnya integritas epitelia.

Tabel 2. Hasil pengamatan morfologi dan karakteristik cendawan *Saprolegnia* sp. pada ikan gurame, *Osphronemus gouramy* Lac.

Parameter	Pustaka (Hughes, 1994)	Hasil Pengamatan
Diameter hifa	< 30 μ m	26.71 - 41.28 μ m
Ukuran sporangium	700 μ m	395 – 497 μ m
Diameter spora	10 μ m	6,5-11,5 μ m
Diameter oogonium	18 - 22 μ m	7.28 - 21,86 μ m
Tipe sporulasi	Keluar dengan memecah ujung sporangium, zoospora primer tidak <i>encyst</i>	Spora memadati sporangium, keluar melalui ujung sporangium (<i>protuberant tip</i>), zoospora primer tidak <i>encyst</i>
Bentuk sporangium	Hifa yang membengkak	Mengembung, batas hifa dan sporangium terlihat jelas
Daerah infeksi	Eksternal	Pada lapisan epidermis (eksternal)



Gambar 2. Jaringan kulit ikan gurame, *Osphronemus gouramy* Lac. yang terinfeksi *Saprolegnia* sp. Epidermis (A), *stratum compactum* (B), miselium *Saprolegnia* sp. (C).



Gambar 3. Penetrasi spora *Saprolegnia* sp. pada lapisan *stratum compactum* ikan gurame, *Osphronemus gouramy* Lac. Lapisan epidermis (A), lapisan *stratum compactum* (B), miselium *Saprolegnia* sp. (C dan D).

Pickering (1994) menyebutkan bahwa penetrasi cendawan *Saprolegnia* sp. umumnya pada integumen dan permukaan otot daging, namun pada kasus tertentu dapat mencapai bagian yang lebih dalam. Lebih lanjut Pickering (1994) menerangkan, bahwa kerusakan kulit pada jaringan ikan yang terinfeksi cendawan kemungkinan disebabkan oleh enzim ekstraseluler yang disekresikan cendawan.

Respon inflamasi spora yang teramati yaitu adanya sel-sel darah putih di permukaan epidermis. Pada perlakuan dengan pemberian ekstrak, keberadaan sel-sel darah putih terlihat lebih banyak dibanding dengan kontrol positif. Alifuddin (2002) menjelaskan bahwa antibodi hanya akan bereaksi terhadap agen penginduksinya dan berfungsi sebagai aglutinin, presipitin, opsonin dan antitoksin.

Kualitas Air

Parameter kualitas air diukur pada awal dan akhir perlakuan. Pada awal perlakuan didapat bahwa tingkat keasaman air sedikit basa dengan nilai amonia yang sangat kecil, namun nilai amonia semakin meningkat pada akhir perlakuan (Tabel 3). Swann (1997) menyebutkan, pH yang optimal untuk ikan budidaya pada daerah tropis adalah 6,6 - 9 dengan kandungan amonia di bawah 0,0125

mg/l. Sedangkan nilai alkalinitas yang baik untuk budidaya adalah 50 – 400 mg/l dengan kesadahan 50 – 400 mg/l (Swann, 1997).

Faktor stress lingkungan merupakan salah satu penyebab munculnya penyakit *Saprolegniasis*. Hasil studi tentang wabah *Saprolegniasis* pada ikan brown trout menunjukkan bahwa area infeksi memiliki karakter berupa adanya peningkatan bahan organik yang pada akhirnya terjadi penurunan yang tajam selama musim hujan akibat tidak ada irigasi dan bendungan (Pickering, 1994).

KESIMPULAN

Cendawan *Saprolegnia* sp. merupakan cendawan eksternal yang bersifat oportunistik yang dapat menginfeksi gurame dengan tanda-tanda klinis yaitu terdapat koloni cendawan berupa benang-benang putih di sekitar permukaan kulit yang terinfeksi dan di sekitar daerah infeksi terdapat lingkaran merah yang menunjukkan terjadinya hemoragi.

Secara deskriptif, ekstrak paci-paci (dosis 0,5; 1,0 dan 1,5 g/l) dapat mencegah serangan *Saprolegnia* sp. dengan prevalensi 33,3 %; 22,2 %; dan 0%.

Tabel 3. Parameter kualitas air selama pemeliharaan ikan gurame, *Osphronemus gouramy* Lac.

Perlakuan	Amonia (mg/l)	pH	Temperatur (°C)
K(-)I	0,002 – 0,123	7,65 – 7,89	26
K(+)I	0,002 – 0,097	7,65 – 7,89	26
D(0,5g/l) I	0,002 – 0,112	7,65 – 7,89	26
D(1g/l) I	0,002 – 0,116	7,56 – 7,89	26
D(1,5g/l) I	0,002 – 0,091	7,62 – 7,89	26

DAFTAR PUSTAKA

- Alifuddin, M. 2002. Immunostimulasi pada hewan akuatik. Jurnal Akuakultur Indonesia. Vol-1. Jurusan Budidaya Perairan, FPIK, IPB. Bogor.
- Angka, S. L. 2002. Aktivitas antibakteri dari fitofarmaka secara *in vitro* dan *in vivo* terhadap *Aeromonas hydrophila* pada ikan lele dumbo. Jurnal Mikrobiologi Indonesia. Bogor. Vol 7(2):47-50.
- Giyarti, D. 2000. Efektivitas ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava* L.), sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees) dan sirih (*Piper betle* L.) terhadap infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* pada ikan patin (*Pangasius hyphothalmus*). [Skripsi]. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Hatai, K. and Hoshiai, G. 1994. Pathogenicity of *Saprolegnia Parasitica* Coker. <http://www.Govdocs.aquake.org/>. [3 Agustus 2005]
- Hughes, G. C. 1994. Saprolegniasis, then and Now : a retrospective. <http://www.Govdocs.aquake.org/>. [31 Juli 2005]
- Mayer, K. 2000. *Saprolegnia*: There's a fungus among us. <http://www.tnfish.org/disease/Saprolegnia.pdf>. [3 Agustus 2005]
- Pickering, A. D. 1994. Factors which predispose salmonid fish to *Saprolegnia*. <http://www.Govdocs.aquake.org/>. [3 Agustus 2005]
- Swann, L. D. 1997. A fish farmer's guide to understanding water quality. http://aquanic.org/publicat/usda_rac/. [10 Agustus 2005].